

electron-lucent deposits at the inner surface of the primary spore wall adjacent to the plasma membrane of the immature aeciospore. At the same time, endoplasmic reticulum lamellae lie with the spore cytoplasm at close proximity of the developing spines, near the base. It appears that the skeleton of the spines has a microfibrillar structure developed all around a central microchannel. The rapid and centripetal growth of the uredinospore wall encases the spines in the wall material. So, with the aid of parietal compression and enzymatic dissolution through the microchannel, the spines progressively assume a more external position. Spines finally appear at the outer surface of the spore wall. During this process, polysaccharidic substances accumulate all over the spines. The future role of these substances is interpreted. At the end, significative sequences of *P. arachidis* germination are observed after purification and isolation of uredinospores in an oil-chamber.

KEY-WORDS : *Puccinia arachidis*, Uredospore, Ultrastructure, spines, germination.

INTRODUCTION

La « rouille » qui s'attaque à l'Arachide, *Arachis hypogaea* L. est l'une des plus importantes maladies cryptogamique sévissant sur l'arachide à travers le monde (Bromfield, 1971. ; Hammons, 1977. ; Smith, 1984. ; Mc Donald & Subrahmanyam, 1992).

Le champignon basidiomycète, *Puccinia arachidis* Speg., responsable de ce fléau réalise la totalité de son développement à l'intérieur des tissus du limbe de cette plante et aboutit à la formation de structures particulières, les **urédosores**, qui apparaissent d'abord à la surface inférieure puis à la face supérieure des feuilles (lorsque l'attaque est sévère), sous la forme de pustules noires, pulvérulentes. A l'intérieur de ces structures sont formées les **urédospores**, vecteurs incontournables de la dispersion du parasite, dont nous avons étudié les caractéristiques au microscope électronique à balayage et à transmission.

Les urédospores de *Puccinia arachidis* sont des cellules douées d'un développement propre et limité dans le temps et l'espace. Elles sont physiologiquement distinctes de la forme que prendra, par la suite, l'hyphe parasite issu de la germination, dans son évolution à l'intérieur des tissus de l'hôte.

La présente étude s'inscrit dans le cadre de travaux plus vastes portant sur la mise évidence des séquences liées au processus d'infection de l'arachide et des relations qui s'établissent entre le prédateur et la plante-hôte au titre d'un programme pluridisciplinaire CEE CT 920074 « Lutte contre les maladies foliaires de l'arachide en Afrique de l'Ouest ».

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1) Matériel biologique.

Les Arachides contaminées comprennent des génotypes d'*Arachis hypogaea* L. issus de la sélection de l'INERA, en particulier KH-241-D, très sensible à la rouille et de l'ICRISAT avec PI 259747, semi-hative, très résistante à la rouille.

Les urédospores proviennent initialement des pieds d'Arachide naturellement infectés dans les champs de la station expérimentale de Niangoloko (Burkina Faso). Ces plantes sont contaminées au sol par des spores véhiculées par voie aérienne. Les urédos-

pores sont récoltées soit en masse, par microaspiration directement au niveau des urédosores mûrs, (pour l'étude au MET), soit à l'unité, par micromanipulation en chambre à huile, (pour l'étude de la germination en microscopie photonique).

2) Techniques microscopiques

a) Microscopie Photonique

Les coupes semi-fines préalablement traitées au bleu de Toluidine boraté ainsi que les chambres à huile servant à la micromanipulation au moyen d'un micromanipulateur pneumatique (type De Fonbrune), sont observées sur un microscope photonique Leitz Orthomat équipé d'une caméra et d'un illuminateur UV associé au système Pleomopak 3 à lame dichroïque permettant l'observation des noyaux après traitement par le DAPI (4'-6 Diamidino-2-Phénylindole) en tampon Mc ILVAINE.

Le milieu de base d'isolement, de purification et de germination pour les microchambres de culture est constitué d'eau de pomme de terre acide préparé de la façon suivante : 4g de pulpe sont mis à macérer 1h à 20° C puis 15 minutes à 90° C. Après filtration sur laine de verre le filtrat est amené à pH 6,2 par l'acide lactique N/10. La dilution au 1/100 est stérilisée à 110° C durant 20 minutes.

b) Microscopie électronique M.E.T.

La difficulté d'obtenir une bonne fixation des urédospires a longtemps été un obstacle à leur étude correcte au MET. Nous avons écarté le procédé qui consiste à casser localement la spore (Sussman *et al.*, 1969) ainsi que l'emploi de certains fixateurs comme le KMnO_4 à faible concentration (Luft, 1956) ou l'acide osmique seul et peu performant quant à la qualité de préservation des structures intracellulaires. Dans ce travail, la double fixation glutaraldéhyde-osmium est utilisée fondamentalement comme suit : le glutaraldéhyde ultra-pur, froid, à 70 %, est ramené à 12 % par l'eau bi-distillée puis à 5 % par du Ringer non salé dilué au 1/4. Le fixateur final est obtenu en ajoutant v/v du tampon cacodylate 0,1 M à pH 7,2. La fixation est conduite 3 heures à 20° C. Après lavages dans le tampon, une post-fixation par l'acide osmique à 1 % dans le même tampon est appliquée 18 h à 4° C, suivie d'une déshydratation classique par la série des alcools puis par des bains d'oxyde de propylène. L'imprégnation et l'inclusion se font dans la résine de Spurr (Spurr, 1969) suivie d'une polymérisation de 24 h à 68° C.

Les coupes ultrafines, exécutées sur l'ultramicrotome Ultratome III (LKB), sont contrastées normalement par la technique à l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb (Reynolds, 1963). La mise en évidence des polysaccharides utilise la technique du contraste par l'acide phosphotungstique à 1 % dans l'acide Chromique à 10 % pour les polysaccharides acides (Rambourg, 1967) et le réactif de Thiéry (Thiéry, 1967) au thiocarbohydrazide-protéinate d'Argent pour les polysaccharides neutres.

Pour la mise en évidence des glycoprotéines des précipitations sélectives sont opérées au moyen de lectines marquées (ConA — ferritine). La réaction classique à l'argent-méthénamine est également utilisée.

Les observations sont faites sur le microscope électronique HITACHI HU 11 EF du Laboratoire sous une tension de 75 Kv.

c) Microscopie électronique MEB.

L'étude des structures spaciales (pustules en place sur le limbe et les surfaces sporales) est réalisée sans fixation préalable, à 5 Kv sur un MEB HITACHI S 3500 équipé d'une platine cryogénique.

RÉSULTATS

Le massif sporogène

A l'intérieur des limbes contaminés, au niveau des auréoles jaunâtres développées sur les feuilles atteintes, les zones sporogènes liées au développement des urédosores (Pl. 1, Fig. 1) sont constituées de cellules hyphales dont la taille et la forme varient considérablement. Ces cellules, se formant à l'abri d'un péridium, sont reliées entre elles par un important ciment intercellulaire épais, opaque aux électrons. Au sein de ce massif compact se différencient des cellules sporogènes bi-nucléées, caractérisées par la densité de leur cytoplasme, un système vacuolaire développé et de nombreuses inclusions lipidiques qu'on ne retrouve pas dans les hyphes différenciées normales (Pl. 1, Fig. 2). En position intercalaire se différencient d'autres cellules pratiquement identiques mais dont la destinée est toute différente. Par leurs sécrétions pariétales abondantes et le relargage des constituants cellulaires au moment de leur mort précoce, elles génèrent un pool de substances disponibles à l'intérieur du sac sporogène. De telles substances entrent notamment dans la composition des épais ciments intercellulaires et interviennent aussi en venant « charger » progressivement la paroi et les épines des jeunes urédospires en formation.

L'Urédo-spore

L'urédo-spore se forme à partir d'un bourgeonnement terminal unique qui apparaît à l'extrémité de la cellule sporogène avant de s'en séparer par la formation d'un septum (Pl. 2, Fig. 3). Ce bourgeon naît de la croissance régulière de la paroi interne de la cellule-mère, processus qui va rapidement conduire à la déchirure de la propre paroi externe de celle-ci dont la croissance est, au contraire, discontinue. De ce fait, la paroi sporale interne en formation se trouve être, dès le départ, en continuité parfaite avec celle de la cellule-mère, comme dans le cas de *P. graminis* var. *tritici*, par exemple. Les vestiges de la paroi externe déchirée sont observables à la base des jeunes cellules sporales sous la forme d'une pellicule (Pl. 2, Fig. 4).

Un septum apparaît ensuite qui individualise totalement cette nouvelle cellule de la cellule sporogène. Au centre de ce septum, la structure d'un pore ayant servi au passage des éléments cytoplasmiques maternels reste toujours observable, à maturité. L'épaississement annulaire, nettement visible à son niveau, constitue l'armature du futur pore germinatif (Pl. 2, Fig. 5).

Le contenu cytoplasmique de la jeune spore devient à ce stade nettement beaucoup plus dense que celui de la cellule sporogène. On remarque également que sa richesse en inclusions lipidiques augmente dans le même temps que la taille des vacuoles

diminue, alors que cette dernière reste toujours plus importante dans la cellule sporogène. Finalement, ces inclusions finissent par se condenser tout autour de mini-vacuoles ainsi que l'ont déjà signalé divers auteurs comme Ehrlich & Ehrlich (1969) et Harder (1976).

Les épines sporales

Dès le début de l'individualisation de la jeune spore il se produit une différenciation remarquable à l'intérieur de la paroi en formation, qui va se développer tout au long du processus de la maturation sporale. Cette différenciation est à l'origine de l'existence de formations épineuses, d'abord strictement considérées comme les éléments d'une ornementation sporale d'un grand intérêt systématique, avant d'être soupçonnées d'intervenir activement dans la dynamique du parasitisme en raison de propriétés physicochimiques en cours d'exploration. Si de telles formations sont facilement observables au microscope photonique comme au MEB (Pl. 5, Fig. 17), leur structure fine, au contraire, a été depuis un certain nombre d'années décrite avec difficulté et avec plus ou moins de précision dans le détail chez *Uromyces caladii* (Moore & Mc Alear, 1961), *Cronatium fusiforme* (Walkinshaw *et al.*, 1967), *Puccinia graminis* (Thomas & Isaac, 1967 ; Ehrlich & Ehrlich, 1969), *Melampsora lini* (Littlefield & Bracker, 1971), *Phragmidium* (Henderson & Prentice, 1973), *Puccinia coronata* (Harder, 1976) et *Puccinia tuyutensis*, (Baka, 1996), entre autres. Tous les auteurs soulignent la difficulté de réaliser une bonne étude cytologique et ontogénique. Il se trouve que l'urédospore de *Puccinia arachidis* nous a permis une approche fine assez satisfaisante de ces structures problématiques

Une première caractéristique consiste dans leur apparition quasi synchrone sur l'ensemble de la paroi présporale au moment de l'individualisation du septum. Nous en avons observé les différentes étapes. Avant le cloisonnement, aucun dispositif cytoplasmique particulier ne permet de prévoir la formation des initiales des épines. Seule l'arrivée, à certains endroits, de vésicules en direction puis au contact du plasmalemme (Pl. 3, Fig. 6a) sur tout le pourtour de la paroi primaire signifie, chez *Puccinia arachidis*, la mise en route du processus de formation des épines. Il se manifeste, au départ, par une invagination du plasmalemme au point de contact (Pl. 3, Fig. 6b). Les ébauches apparaissent, dès le début, comme de petits troncs de cône intrapariétaux, qui ont la même transparence aux électrons que la paroi primaire. Chez *Puccinia arachidis*, la paroi primaire (P1) intervient directement dans leur élaboration avec le concours du plasmalemme et des éléments du RE qui viennent se ranger parallèlement à lui (Pl. 3, Fig. 8), comme dans le cas de *Phragmidium* (Henderson & Prentice, 1973). L'ensemble forme une sorte de « plaque » d'ancrage basale pour la future épine (Pl. 3, Fig. 7). L'évolution de cette ébauche aboutit à des formes coniques régulières, larges à la base et pointues au sommet. Comme dans le cas de *Puccinia graminis* (Littlefield & Bracker, 1971), la structure microfibrillaire de ces ébauches est particulièrement marquée (Pl. 3, Fig. 8) et son origine apparaît étroitement liée, à travers le plasmalemme, au réseau des microfilaments du cytosquelette. Ces épines présentent, en outre, un microcanal central original et unique en son genre, seulement identifiable sur des sections parfaitement médianes (Pl. 3, Fig. 6d). Selon nos observations, ce canal permettrait la diffusion de substances issues directement du cytoplasme et nécessaires pour lyser la partie sommitale de la paroi secondaire, d'où la formation d'un évasement à ce niveau (Pl. 3, Fig. 7).

Au fur et à mesure que s'installe le processus de maturation de la spore, l'accroissement centrifuge généralisé de la paroi s'intensifie tout en restant dissymétrique dans la région des jeunes épines. Comme cela a été observé chez d'autres urédospores, un

peu de matériel de la paroi secondaire vient s'intercaler entre le plasmalemme et l'ébauche de l'épine. La remarquable dynamique de la croissance de la paroi secondaire qui s'établit tout autour des épines, par contre, donne alors l'image de structures fixées au fond d'un puits en forme d'entonnoir. Ce n'est que lorsque l'épine est totalement formée qu'elle subit la pression combinée de l'accroissement du matériel cytoplasmique sporal, d'une part, et de l'épaississement de la paroi en croissance, d'autre part. Les épines sont alors refoulées progressivement vers la surface. La cavité conique supérieure issue de l'action d'enzymes émises par le canal central se remplit de substances auxquelles viennent s'ajouter des résidus hérités du sac sporogène (Pl. 4, Fig. 10). Finalement, la pointe de l'épine finit par émerger entraînant avec elle la pellicule externe et sa charge polysaccharidique (Pl. 4, Fig. 11).

Les tests utilisés pour la mise en évidence des polysaccharides acides sur des urédospores non matures confirment la présence d'un matériel réactif associé aux épines sporales et faisant le lien avec les épines des urédospores voisines, avant leur dispersion (Pl. 4, Fig. 13). Il existe une grande analogie entre ces substances et celles qui servent de ciment aux cellules sporogènes dans l'urédosore. Des glycoprotéines leur sont également associées qui réagissent en précipitant avec les lectines exactement de la même manière que réagit la charge superficielle des cuticules de la face inférieure des limbes de plantes particulièrement sensibles au parasite (résultats non encore publiés).

Au terme du processus de maturation qui conduit à la spore adulte munie d'une paroi épaisse échinulée, unistratifiée et fortement opaque aux électrons (Pl. 5, Figs. 14 à 17), il apparaît qu'aucune épine érigée n'est totalement superficielle : le socle apparent qui les supporte correspond à la trace de la « plaque » originelle, espace primitif initié par le plasmalemme, le réticulum et la paroi primaire lors de la formation des ébauches coniques décrites plus haut (Pl. 3, Fig. 10).

La germination des urédospores

Comme dans beaucoup de cas, les spores de *Puccinia arachidis* ont un pouvoir de germination qui décroît sensiblement avec le temps et les conditions physicochimiques du milieu ambiant, de telle sorte que des sporées de quelques jours, naturellement desséchées et fortement pigmentées, ne germent plus. En réalité, beaucoup d'urédospores germent sur place, dans l'urédosore, lorsque ce dernier est maintenu dans des conditions d'humidité confinée, à température normale.

Les expériences de germination réalisées en conditions normales ne permettent pas de constater l'existence de contraintes trop excessives : plus de 50 % des urédospores fraîchement prélevées de *Puccinia arachidis* germent très facilement en moins de 6 h une fois dispersées par vaporisation sur de l'agarose non nutritive. Dans ces conditions, la germination est souvent totale et se termine par la lyse d'un tube germinatif d'allure frippée, non cloisonné, dont la longueur peut dépasser les 2800 μm . On constate, aussi, que le tube germinatif ne s'accroche pas au substratum et que, dans de telles conditions, peu d'urédospores parviennent à former à l'extrémité du tube, l'appressorium, qui est l'organe préinvasif caractéristique de ce parasite. Ce n'est plus le cas si l'on opère sur membrane artificielle (collodion) imprégnée d'un extrait chloroformique des substances extracuticulaires du limbe (Pl. 6, Fig. 18 d et e).

Afin de mieux l'étudier, nous avons suivi en continu le processus de germination d'urédospores fraîches, uniques et isolées pures au micromanipulateur, hors d'atteinte des substances inhibitrices générées par l'urédosore, d'une part, et par l'action des masses

sporales entre elles, d'autre part. Les tests sont réalisés en microchambre de culture, sur un milieu à base d'eau de pomme de terre acide. Dans ces conditions, on constate que la proportion de germination peut atteindre et dépasser les 80 % ce qui n'est plus le cas si, avant d'être isolées mécaniquement, les urédospores sont placées dans une chambre de préhumidification, 1 h à 18° C, à la lumière du jour Rowell (1956). Utilisée dans le but de ménager le plasmalemme et d'éviter le choc osmotique provoqué par un réhydratation brutale (comme dans le cas des pollens de monocotylédones), cette disposition ne convient pas aux urédospores hydrophobes de *Puccinia arachidis*, rejoignant ainsi les conclusions de Wiese & Daly, 1967 et de Sood & Wiese, 1974 tirées de l'étude de *Puccinia graminis* var. *tritici*.

Dans les conditions expérimentales de la microchambre à huile, au contraire, quatre importants phénomènes sont observables : 1) - l'**accélération** de la sortie du tube par le pore germinatif en moins de 3 h (Pl. 6, Fig. 18a), 2) - la **progression** régulière du tube en direction de la *phase huileuse* qui circonscrit la microgoutte dans la chambre à huile (Pl. 6, Fig. 18b et c), 3) - la **sortie** systématique du tube germinatif de la microgoutte et la formation, dans la *phase huileuse*, de la structure appressoriale qui s'individualise par une cloison lorsque les deux noyaux aux formes allongées sont parvenus dans la région apicale du tube germinatif (Pl. 6, Fig. 19), 4) - l'**apparition** finale de **quatre noyaux** après une nouvelle mitose dans l'appressorium ainsi formé (Pl. 6, Fig. 20).

Ces événements sont, dans l'ensemble, en bonne concordance avec les résultats de nombreux travaux antérieurs effectués sur la germination d'un certain nombre de rouilles et tout particulièrement avec le travail de De (1986), en microscopie photonique, sur ce même *Puccinia arachidis*.

DISCUSSION

Cette étude a permis de montrer en détail les séquences encore mal connues de la formation des urédospores chez *Puccinia arachidis* et d'en préciser certaines caractéristiques ultrastructurales, les travaux de Mims *et al.* (1989) ayant porté essentiellement sur la structure fine des éléments de *Puccinia arachidis* différenciés au cours de la phase d'attaque et d'infection chez l'arachide.

Si, dans l'ensemble, les résultats correspondent assez bien à ce que l'on connaît aujourd'hui de la morphologie de diverses rouilles grâce aux travaux récents qui leur ont été consacrés, nous disposons de quelques particularités concernant *Puccinia arachidis*. Chez ce champignon, le stade aecial est actuellement le seul connu avec certitude et le développement du parasite se réalise strictement sur *Arachis hypogaea* L. Les urédospores (aeciospores) sont donc les seuls éléments de dispersion actuellement accessibles à l'expérimentation. A cet égard, la présence des échinulations à la surface de la spore si elle ne constitue pas une originalité en soi, représente cependant un élément non négligeable d'investigation que nous avons particulièrement tenu à privilégier. L'ontogénèse de ces épines met bien en évidence à la fois la complexité et l'originalité de ces structures. Les mécanismes décrits pour expliquer la formation des épines chez *Melampsora lini* (Manocha & Shaw, 1967) ne s'appliquent pas exactement ici. Les épines de *Puccinia arachidis* n'apparaissent pas, en effet, liées à l'existence d'une matrice qui serait associée à la paroi sporale secondaire, progressivement dissoute durant l'ascension de l'épine. Elles prennent naissance à la suite de l'arrivée de vésicules au contact du plasmalemme qui s'invagine à cet

endroit, contrairement à ce qui a été décrit chez *Phragmidium* par Henderson & Prentice (1973). On se rapproche plutôt du modèle de *Puccinia sorghi* bien étudié par Henderson *et al.* (1972) et Rijkenberg & Truter (1974) pour lesquels l'implication de la paroi primaire est au centre du processus d'élaboration de l'épine. En outre, c'est le matériel pariétal interspinal directement au contact de l'épine qui est soumis à un processus de dissolution enzymatique. En effet, dans le cas d'urédospores qui ne peuvent pas parvenir au développement complet, on constate qu'il existe, dans la paroi principale encore jeune, des espaces réguliers qui correspondent à des zones de dissolution précoces dont l'origine ne peut être attribuée qu'aux ébauches d'épines sous-jacentes, avortées (Pl. 4, Fig. 9). D'autre part, sur la structure même de cette paroi secondaire compacte et naturellement opaque aux électrons, dans laquelle Williams & Ledingham (1964) distinguent trois couches successives chez *Puccinia graminis*, on peut dire qu'aucune des techniques utilisées ne nous ont permis de confirmer une telle distinction chez *Puccinia arachidis*. La paroi secondaire des urédospores de ce champignon apparaît parfaitement continue au stade des ébauches des épines. Ce n'est que localement et à la verticale de ces ébauches que des phénomènes extrêmement rapides combinant activité lytique, synthèse pariétale et poussée mécanique vont parvenir à faire passer l'épine de sa position d'ébauche assez profondément incrustée dans le cytoplasme sporale, à celle d'une épine totalement érigée à la surface de la paroi secondaire de cette même spore.

Lorsque les épines évoluent normalement, l'action du mélange PTA-Ac Chromique met parfaitement en évidence l'existence, autour de chaque épine dressée, d'un halo de substances réactives qui témoigne de l'existence du processus de dissolution du matériel pariétal environnant (Pl. 4, Fig. 10), de telle sorte que nous considérons comme très important le mécanisme érectif qui conduit les épines à remonter à la surface de la paroi secondaire et à se charger de substances actives qui interviendront par la suite dans les phénomènes d'adhésivité cuticulaire permettant finalement l'infection de la feuille.

De leur côté, les tests de germination réalisés en chambre à huile, illustrent les propriétés très particulières des épines et du filament germinatif des urédospores dans la phase préparatoire à l'infection : ils s'accordent avec les recherches de Clement *et al.* (1994) sur l'importance de l'hydrophobicité dans les phénomènes d'adhésivité des urédospores et des tubes germinatifs chez *Uromyces viciae-fabae*.

Cette étude sur l'ontogénie sporale de *Puccinia arachidis* ainsi que nos observations sur les modalités particulières de la germination nous ont conduit à analyser avec précision des structures originales et à donner une explication à la dynamique de leur développement.

Un prochain article fera le lien avec toutes ces données en abordant, en détail, la phase active du parasitisme de *Puccinia arachidis* Speg. sur *Arachis hypogaea* L. depuis la formation de l'appressorium sur la feuille jusqu'à la colonisation généralisée des tissus de l'hôte en passant par la phase cruciale de la pénétration du limbe à travers le stomate et l'attaque des premières cellules-cibles par les cellules haustoriales.

REMERCIEMENTS : Les auteurs tiennent à remercier vivement M^{me} M. DUMONT, photographe au Laboratoire de Cryptogamie du Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris, pour le tirage de l'ensemble des clichés de cet article.

BIBLIOGRAPHIE

- BAKA Z. A. M., 1996 — Comparative ultrastructure of aecial and telial infections of the autoecious rust fungi *Puccinia tuyutensis*. *Mycopathologia* 134 : 143-150.
- BROMFIELD K. R., 1971 — Peanut rust. A review of literature. *Journal of american peanut research and education association. INC.* 3 : 111-121.
- CLEMENT J. A., PORTER R., BUTT Tariq M. & BECKETT A., 1994 — The rôle of hydrophobicity in attachment of urediniospores and sporelings of *Uromyces viciae-fabae*. *Mycological research* 98(11) : 1217-1228.
- DE A. B., 1986 — Nuclear behaviour during germination of uredospores of *Puccinia arachidis* Speg. *Current science* 55(4) : 192-193.
- EHRlich M. A. & EHRlich H. G., 1969 — Uredospore development in *Puccinia graminis*. *Canadian journal of botany* 47 : 2061-2064.
- HAMMONS R. O., 1977 — Groundnut rust in United States and the Caribbean. *PANS* 23 : 300-304
- HARDER D. E., 1976 — Electron microscopy of urediospore formation in *Puccinia coronata avenae* and *Puccinia graminis avenae*. *Canadian journal of botany* 54 : 1010-1019.
- HENDERSON D. M., EUDALL R. & PRENTICE H. T., 1972 - Morphology of the reticulate teliospores of *Puccinia chaerophylli*. *Transactions of the british mycological society* 59 : 229-232.
- HENDERSON D. M. & PRENTICE T., 1973 — Development of the spores of *Phragmidium*. *Nova Hedwigia* 24 : 431-436.
- LITTLFIELD L. J. & BRACKER C. E., 1971 — Ultrastructure and development of urediospores ornamentation in *Melampsora lini*. *Canadian journal of botany* 49 : 2067-2073.
- LUFT J. H., 1956 — Permanganate. A new fixative for electron microscopy. *Journal of biophysical and biochemical cytology* 2 : 799-801.
- Mc DONALD D. & SUBRAHMANYAM P., 1992 — Rust of Groundnut. In *Plant diseases of international importance* (eds. U.S. Singh, A.N., Mukopadhyay, J., Kumar, J. and Chaube, H.E.). Prentice Hall, Inc., Englewood cliffs, New Jersey, 2, 272-384.
- MANOCHA M.S. & SHAW, M. 1967 — Electron microscopy of urediospores of *Melampsora lini* and of rust-infected flax. *Canadian journal of botany* 45 : 1575-1582.
- MIMS C. W., TAYLOR J. & RICHARDSON E. A., 1989 - Ultrastructure of the early stage of infection of peanut leaves by the rust fungus *Puccinia arachidis*. *Canadian journal of botany* 67 : 3570-3579.
- MOORE R. T & Mc ALEAR, J. H., 1961 — Fine structure of *mycota* 8. On the aecidial stage of *Uromyces caladii*. *Phytopath. Zeitschrift*, 42, 297-304.
- RAMBOURG A., 1967 — Détection des glycoprotéines en microscopie électronique : coloration de la surface cellulaire et de l'appareil de Golgi par un mélange acide chromique-phosphotungstique. *Comptes Rendus de l'académie des sciences, série D.* 265 : 1426-1428.
- REYNOLDS E. S., 1963 — The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *Journal of cell biology* 17 : 208-212.
- RIJKENBERG F. H. J. & TRUTER S. J., 1974 — The ultrastructure of the *Puccinia sorghi* aecial stage. *Protoplasma* 81 : 231-245.
- ROWELL J. B., 1956 — Rehydration injury of dried urediospores of *Puccinia graminis* var. *tritici*. *Phytopathology* 46 : 25 (Abstract).
- SMITH D. H., 1984 - Early and late leaf spot. In compendium of peanut diseases (eds. Porter D. M., Smith D. H. & Rodriguez-Kabana R., American phytopathological society. St. Paul, Minnesota : 5-7.
- SOOD P. N. & WIESE M. V., 1974 — Effects of pregermination environments on the germinability of uredospores of two wheat rust fungi. *Phytopathology* 64 : 1244-1248.
- SPURR A. R., 1969 — A low viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *Journal of ultrastructural research* 26 : 31-43.

- SUSSMAN A, LOWRY R. J., DURKEE L. & RAMESCH MAHESHWARI., 1969 — Ultrastructural studies of cold-dormant and germinating uredospores of *Puccinia graminis* var. *tritici*. *Canadian journal of botany* 47 : 2073-2078.
- THIERY J. P., 1967 — Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. *Journal de microscopie* 6 : 987-1018
- THOMAS P. L. & ISAAC P. K., 1967 — The development of echinulation in urediospores of wheat stem rust. *Canadian journal of botany* 45 : 523-526.
- WALKINSHAW C. H., HYDE J. M. & JANICE van ZANDT., 1967 — Fine structure of quiescent and germinating aeciospores of *Cronartium fusiforme*. *Journal of bacteriology* 94, 245-254.
- WIESE M. V. & DALI J. M., 1967 — Some effect of pre and postgermination treatments on germination and differentiation of uredospores of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. *Phytopathology* 57, 1211-1215.
- WILLIAMS P. G. & LEDINGHAM G. A., 1964 — Fine structure of wheat stem rust uredospores. *Canadian journal of botany* 42 : 1503-1508.

PLANCHE 1 :

Fig. 1. — (Encarté). Coupe semi-fine dans un limbe (L) particulièrement contaminé. On voit deux urédosores (S) chargés d'urédospores (Sp) respectivement sur la face supérieure et la face inférieure du limbe. Echelle = 1 μ m.

Fig. 2. — Coupe fine réalisée dans un urédosore. On remarque la limite inférieure du massif cellulaire circonscrit par un périidium (Pe). Les cellules basales, riches en vacuoles (va) dans lesquelles on observe de fréquents lomasomes (lo), forment une sorte de stroma (Str) compact. Au centre de la coupe, une cellule sporale (CS) et une cellule intercalaire (Ci), sont bien différenciées. On remarque que la cellule intercalaire ne porte pas d'ébauches épineuses. C'est cette cellule qui fournit l'essentiel des ciments intercellulaires (ce). Une jeune urédospore (SP) est en voie de maturation ; riche en réserves elle présente à sa périphérie une couronne d'ébauches épineuses intrapariétales (Ep, astérisques). Un seul noyau (N) est visible sur la coupe. (Cm), cellule mère sporogène. Echelle = 1 μ m.

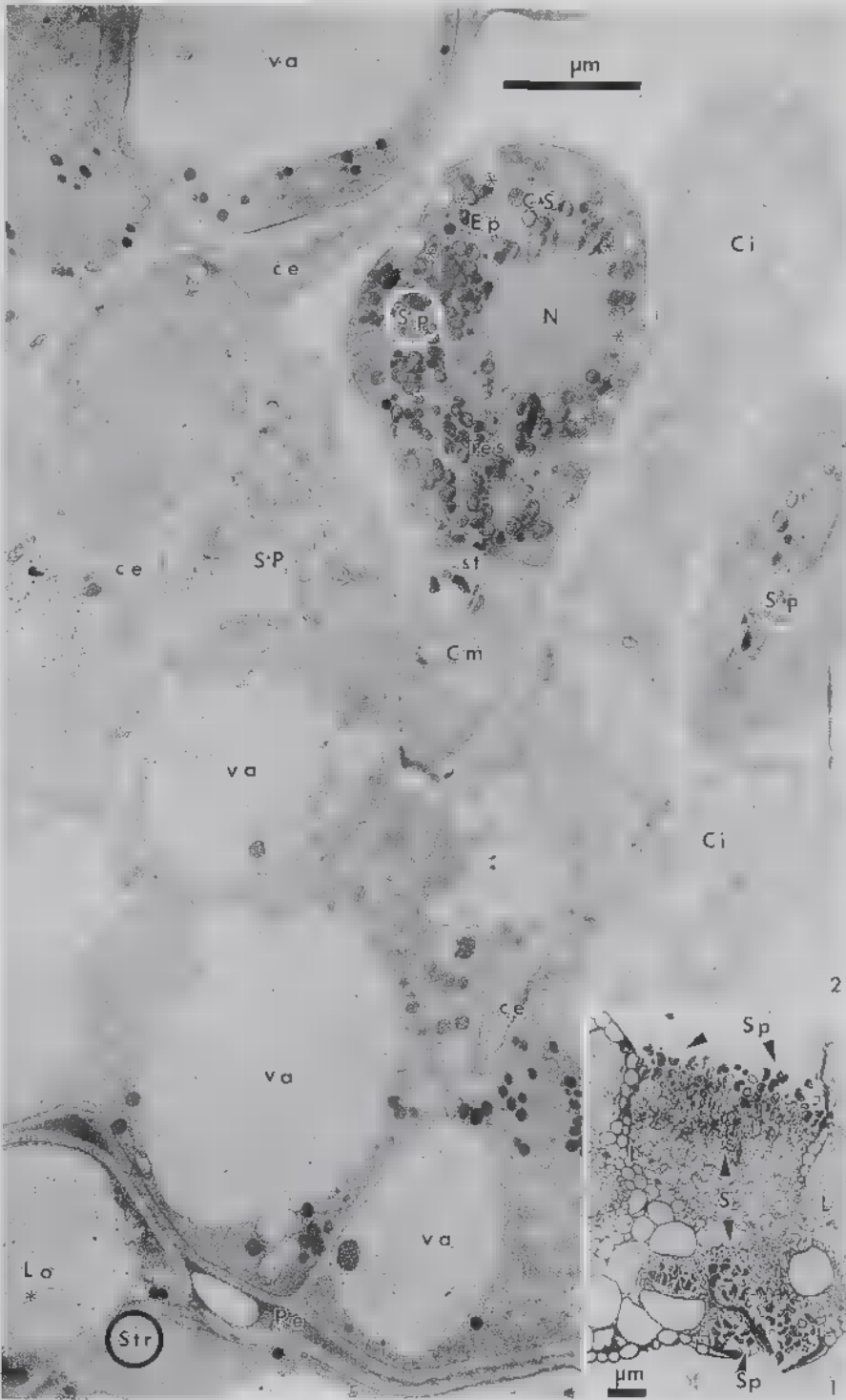


PLANCHE 2 :

Fig. 3. — Détail d'une jeune urédospore avec ses ébauches d'épines (Ep) toutes au même stade (développement synchrone). On observe : les amas de vésicules lipidiques (vl), le septum (St) bien formé qui l'isole de la cellule mère sporogène (CS). A la base de cette cellule on aperçoit du ciment interstitiel (ce). Echelle : 0,5 μm .

Fig. 4. — Détail de la pellicule (pe) correspondant à la paroi secondaire de la cellule sporogène (CS) déchirée par le bourgeonnement initial et entraînée à l'extérieur de la paroi sporale (P2). Echelle : 0,1 μm .

Fig. 5. — Séparation de l'urédospore (SP) de la cellule sporogène (CS) par le septum (St) et conservation de la structure du pore (Po) qui deviendra le pore germinatif autour duquel on distingue les deux parois (P1) et (P2). Echelle : 0,1 μm .



PLANCHE 3 :

Fig. 6 — Séquences ontogéniques de la formation des épines. Echelle : 0,1 μm

a) Montée des vésicules (ve) au contact du plasmalemme (pm).

b) Invagination du plasmalemme (pm) entraînant la paroi primaire (P1). Apparition des ébauches épineuses de forme conique (Ep), transparentes aux électrons avec, tout autour, un halo de dissolution (flèches)

c) coupe légèrement oblique d'un cône épineux (Ep) en érection. On note la présence de mucosubstances (ms).

d) coupe passant exactement par un plan longitudinal médian d'une épine au début de son ascension avec son canal central (ca). La pellicule (pe) extérieure est soulevée.

Fig 7. - - Étude détaillée de l'épine (Ep) incluse dans la paroi d'une urédospore (SP) non mature. Noter la forme conique parfaite, la grande base assise sur le plasmalemme (pm), une paroi primaire (P1) réduite, une paroi secondaire (P2) développée tout autour et présentant une cavité de lyse (flèches), centrée sur l'extrémité de l'épine qui montre bien qu'une activité enzymatique s'exerce à ce niveau, pour préparer le passage de l'épine. La cavité est elle-même remplie de mucosubstances (ms) de remplissage (astérisque). Echelle : 0,1 μm .

Fig. 8. — Détail de la structure fibrillaire de l'épine (Ep). Les faisceaux de fibrilles (fi) émanant du cytoplasme via le plasmalemme (pm), convergent vers la pointe de l'épine. Remarquer les alignements du réticulum (Re). Réactif : PATag (Thiéry) suivi d'un léger contraste par l'acétate d'uranyle. Echelle : 0,1 μm .

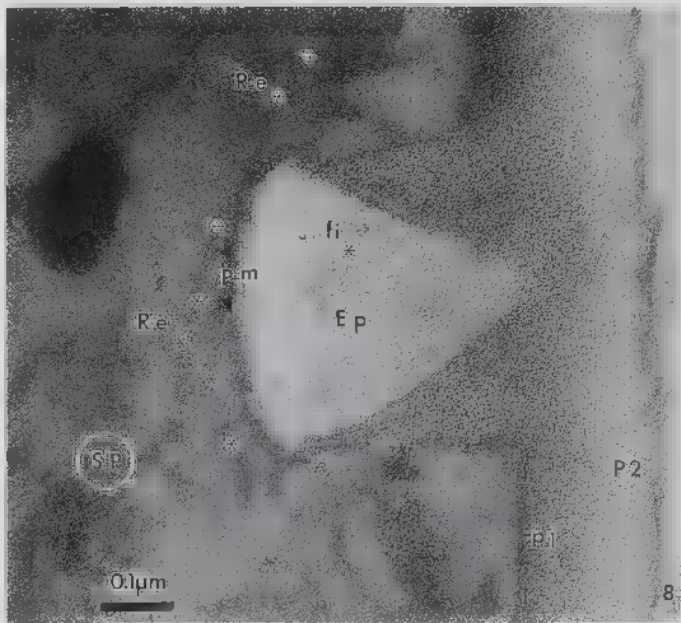
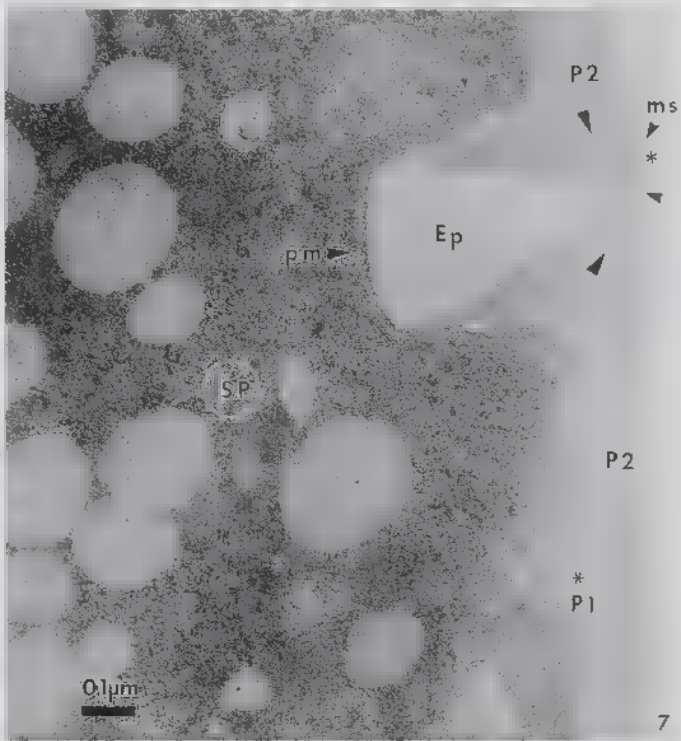
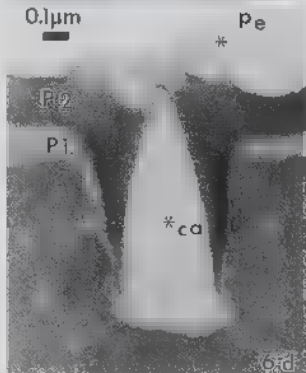
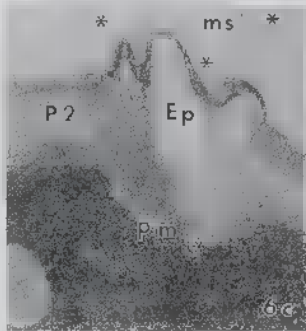
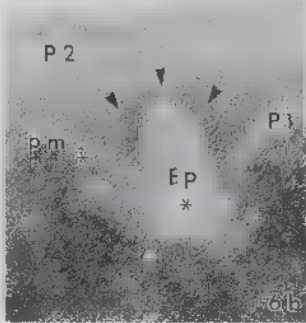
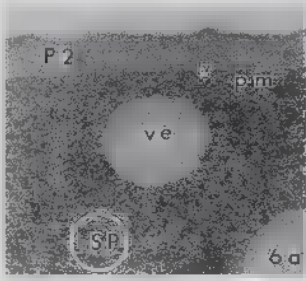


PLANCHE 4

Fig. 9. — Structure « ajourée » d'une paroi secondaire (P2) d'urédospore au comportement anormal. On reconnaît la pellicule externe (Pe). Les zones périodiquement claires correspondent à des dissolutions précoces de la paroi au-dessus de l'emplacement d'ébauches épineuses avortées (flèches). Echelle : 1 μm .

Fig. 10. — Mise en évidence du matériel issu d'un processus de lyse (ly) par la formation d'un halo réactif autour de l'épine (Ep) en érection sur son socle (so). PTA-Ac Chromique. Echelle : 0,1 μm .

Fig. 11. -Epine (Ep) non complètement déployée. On remarque le voile pelliculaire (Pe) et le réseau de fibrilles (fi) constituant le squelette de l'épine. Echelle : 0,1 μm

Fig. 12. — La réaction à l'Argent-Méthénamine met en évidence la zone basale de l'épine (astérisques) en continuité avec les restes de la paroi primaire (P1). Echelle : 0,1 μm .

Fig. 13. — Urédospores mûres, au moment de l'ouverture de l'urédosore. Le réactif PTA-Ac Chromique révèle la présence de substances (ms) qui relient les urédospores entre elles par l'intermédiaire de leurs épines. Echelle : 0,5 μm .

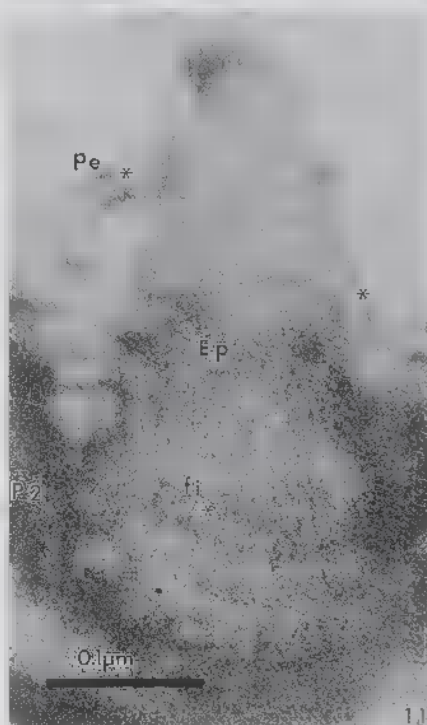
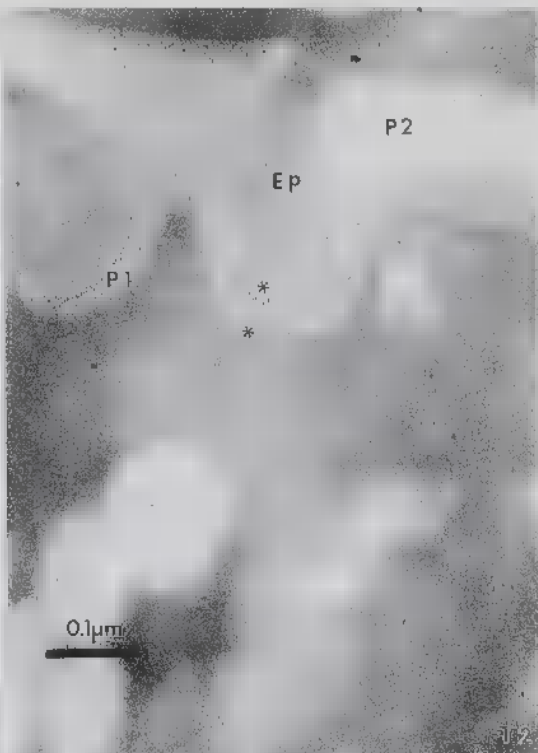
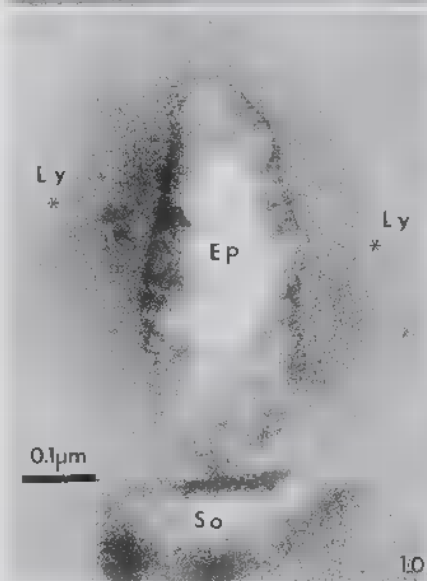
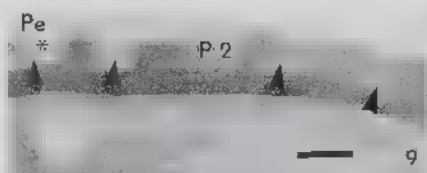


PLANCHE 5

Fig. 14. — Coupe transversale dans une urédospore (Sp) presque mûre. Les épines (Ep) sont érigées à la surface de la paroi (P2), le cytoplasme chargé de réserves (res) et les vacuole (va) contiennent des lomasomes (lo). On devine faiblement le noyau (N) des restes d'alignement de RE autour de mitochondries (mi). Echelle : 0,5 μm .

Fig. 15. — Détail du bouchon fibreux callosique (bc) qui obstrue le pore germinatif (pg) de l'urédospore. Echelle : 0,5 μm .

Fig. 16. — Coupe équatoriale dans une urédospore mûre (Sp). La paroi (P2) fortement opaque aux électrons a atteint son maximum d'épaisseur. La paroi primaire (P1) est réduite à une mince couche basale claire, difficile à distinguer du plasmalemme. Le cytoplasme fortement condensé ne présente qu'une définition médiocre : seules sont individualisées les vésicules chargées de réserves (res), qui y sont largement distribuées. Echelle : 0,5 μm .

Fig. 17. — Encarté. Urédospore mature prélevée à la sortie d'un urédosore mûr et observée directement au MEB équipé d'une platine cryogénique. Le réseau des épines (Ep) est parfaitement développé et le pore germinatif (pg) bien visible. Echelle : 2,5 μm .

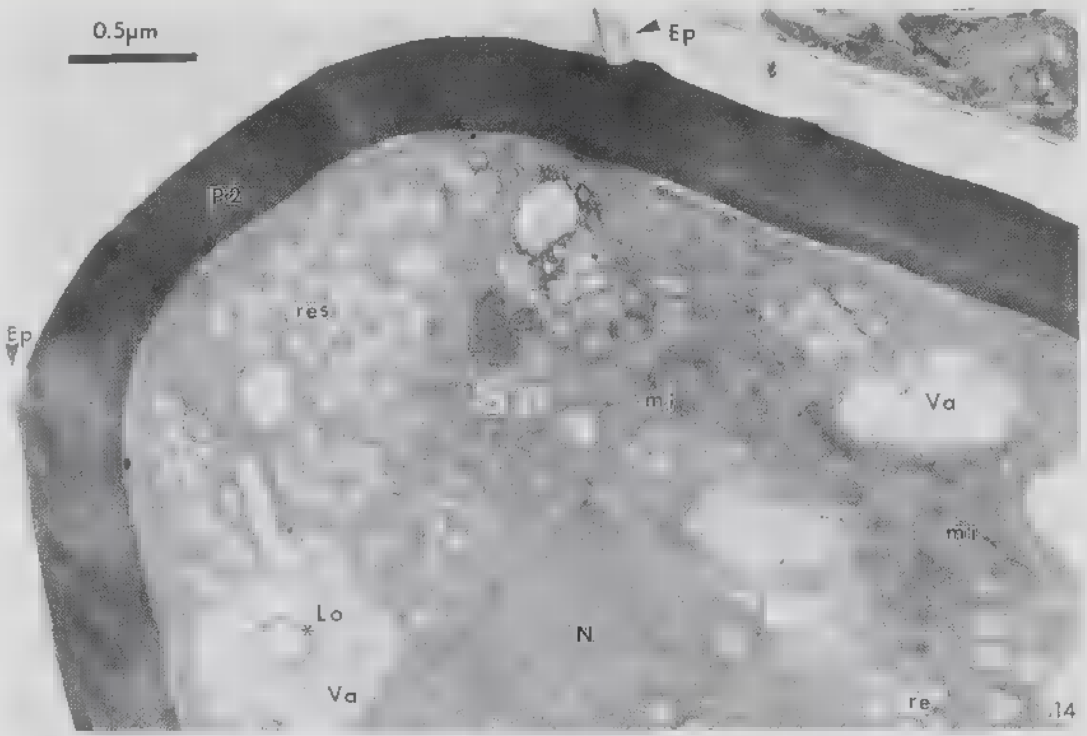


 PLANCHE 6

Fig. 18. — Les phases essentielles de la germination de la spore (Sp) observées au moyen de la chambre à huile (CH). Echelle : 5 μm

a) Germination d'une urédospore (Sp) isolée pure. Après 3 h, le tube germinatif (Tg) est bien formé et s'oriente immédiatement en direction de l'interface milieu-huile.

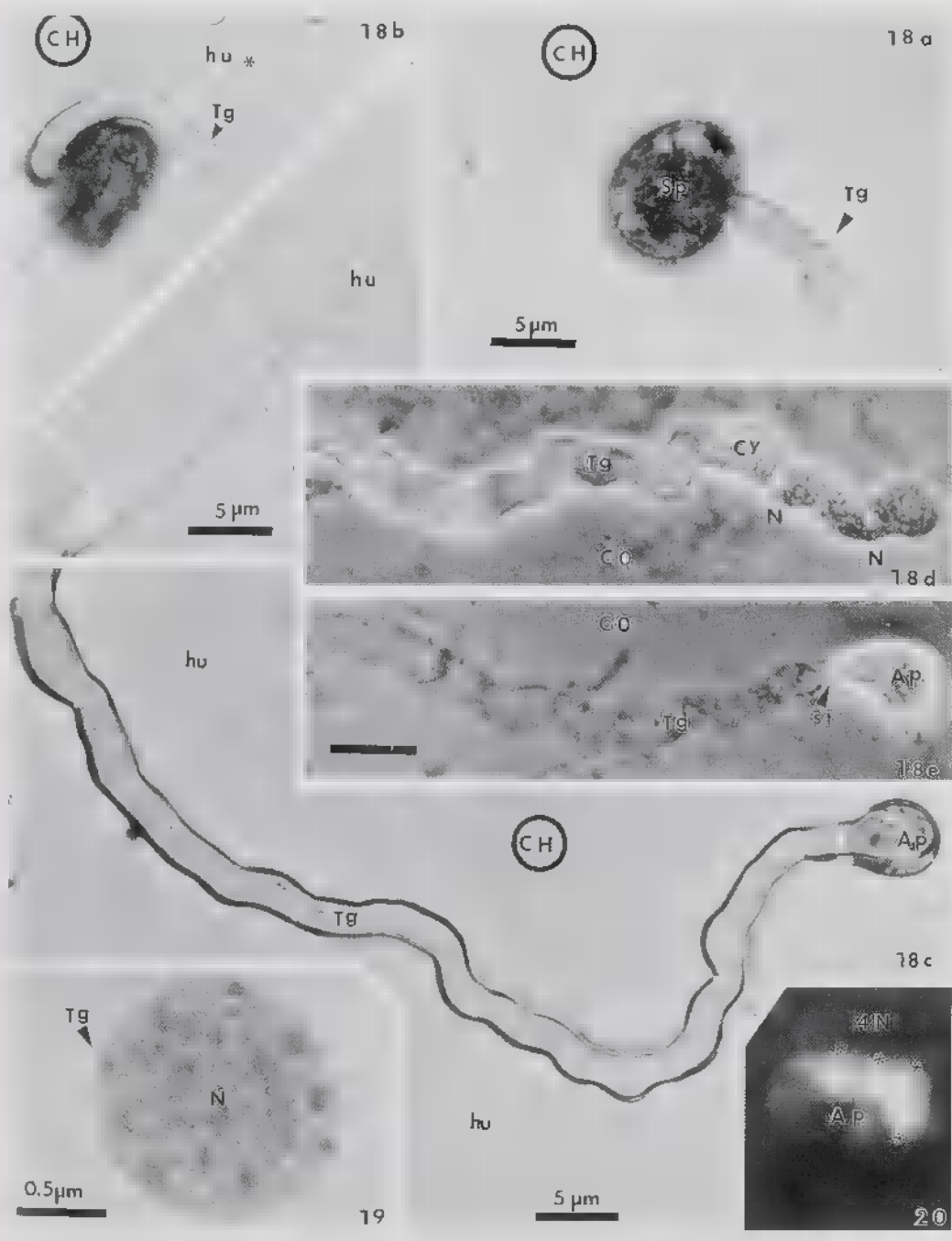
b) Sortie du tube germinatif (Tg) de la microgoutte dans l'huile (hu).

c) Progression continue du tube (Tg) dans l'huile et formation de l'appressorium (Ap)

d et e) La même germination réalisée sur membrane de collodion (CO) imprégnée d'un extrait chloroformique de cuticule de limbe d'arachide. On voit la migration des deux noyaux (N) et la formation normale d'un appressorium (Ap) après cloisonnement par un petit septum (st).

Fig. 19. — Coupe dans le filament germinatif (Tg) au niveau d'un noyau (N). Echelle : 1 μm

Fig. 20. — Observation des 4 noyaux nouvellement formés dans l'appressorium (Ap) par microscopie de fluorescence au DAPI. Echelle : 5 μm .



1871

1872

1873

1874

1875

1876

1877

1878

1879

1880